

Title	上皮細胞の形態形成およびそのがん化におけるEphA2受容体の新規シグナル伝達経路の解明(Abstract_要旨)
Author(s)	原田, 耕平
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2015-03-23
URL	http://dx.doi.org/10.14989/doctor.k19148
Right	学位規則第9条第2項により要約公開
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	none

京都大学	博士（生命科学）	氏名	原田 耕平
論文題目	上皮細胞の形態形成およびそのがん化におけるEphA2受容体の新規シグナル伝達経路の解明		
(論文内容の要旨)			
<p>受容体チロシンキナーゼであるEph受容体は、細胞膜表面に存在するephrinリガンドと結合することで細胞内にシグナルを伝達する。これにより、発生過程における細胞移動・生存制御、そして上皮組織の恒常性の維持などの重要な役割を担っている。しかし、多くのがん組織において、Eph-ephrinシグナルのバランスの崩壊が報告されている。中でもEphA2受容体は上皮組織由来のがん細胞において発現量が上昇しており、がんの悪性度との相関性も指摘されている。その一方で、がん化を促進するシグナル伝達経路の解析は、あまり進んでいないのが現状である。</p> <p>本研究の第2章では、アノイキスと呼ばれる上皮細胞において細胞外基質（ECM）との接着喪失により誘導されるアポトーシスに関して、EphA2の新規シグナル伝達経路を解析した。がん細胞はアノイキス耐性を獲得することで、原発巣から他の組織へと転移することが可能になる。膀胱がん細胞ではEphA2過剰発現によりアノイキスが抑制されることが報告されており、申請者はHeLa細胞を用いて、EphA2に直接結合する新規G蛋白質活性化因子Ephexin4が下流で働いていることを見出した。Ephexin4は細胞運動・生存制御など多様な機能を担う、Rhoファミリー低分子量G蛋白質RhoGを特異的に活性化する。またRhoGはPI3K/Aktシグナル経路を介してアノイキスを制御しており、本研究ではこの上流においてEphA2/Ephexin4による活性制御を受けていることを示した。これにより、EphA2はEphexin4を介してRhoG、そしてその下流にあるPI3K/Akt経路を活性化し、がん細胞のアノイキス耐性の獲得に寄与していることが明らかとなった。</p> <p>第3章では、上皮細胞の形態形成に関してEphA2の役割と新規シグナル伝達経路を解析した。イヌ腎臓由来のMDCK細胞は、マトリゲル上で三次元培養を行うと、上皮組織特異的な管腔構造であるシストやチューブを形成する。EphA2のシスト形成への関与は認められなかったが、上皮間葉転換（EMT）を促す肝細胞増殖因子（HGF）刺激により、EphA2はリガンド非依存的にチューブへの形態変化を制御することが明らかになった。がん細胞ではPI3K/Akt経路の活性化によりEphA2の897番目のセリン残基（S897）がリン酸化され、リガンド非依存的にEphexin4/RhoG経路を活性化することが以前の研究で示されていた。この知見をもとに、申請者はMDCK細胞においてもHGF刺激によるEphA2のS897へのリン酸化は、PI3Kを介して行われることを示し、さらにEphexin4もEphA2と同様にRhoGの活性化を介してチューブ形成を制御していることを明らかにした。従ってHGF刺激を加えることで、PI3Kを介してEphA2のS897がリン酸化され、これによりEphA2はEphexin4/RhoG経路を活性化し、リガンド非依存的にチューブへの形態変化を促進している可能性が示唆された。</p> <p>以上、申請者はEphA2受容体による上皮細胞の形態制御、およびがん化に必要なアノイキス耐性の獲得における重要な新規シグナル伝達経路を明らかにした。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

エフリンは、発生過程における細胞の位置や数を制御する重要な因子である一方、このシグナルの異常が様々な疾患の発症と深く関わっていることも多数報告されている。エフリンの受容体の1つ、EphA2は様々な上皮組織由来のがんにおいて過剰に発現し、がん細胞の浸潤性の獲得に関与していることが報告されている。ところが、EphA2による上皮細胞のがん化促進を担う分子メカニズムについては不明な点が多いのが現状であった。本研究では、EphA2受容体とその下流のシグナル分子が、がん細胞のアノキス耐性の獲得にも関与していることを新たに見いだした。正常な上皮細胞は、細胞外基質との接着から離脱するとアノキスと呼ばれるプログラム細胞死が引き起こされる。一方で、がん細胞はアノキス耐性能を有するため、細胞は非接着条件下で生存が可能である。申請者は、EphA2受容体とそのリガンドであるエフリン非依存的に、アノキス耐性の獲得に関与していることを明らかにした。さらに、このアノキス耐性の獲得には低分子量Gタンパク質RhoGと、その特異的グアニンヌクレオチド交換因子、Ephexin4によって細胞内でPI3キナーゼ/Aktの経路が活性化されることが必要であることも明らかにした。このようにEphA2受容体がエフリン非依存的にがん細胞のアノキス耐性獲得に関与し、その分子メカニズムを初めて明らかにしたことは、EphA2受容体によるがん悪性化を解明する研究につながるもので高く評価できる。

一方、正常な上皮細胞におけるEphA2受容体の機能について、分子レベル及び細胞レベルでの解析はほとんどなされていなかった。本研究では、MDCK細胞による三次元培養系を用いて、EphA2受容体のリガンドであるエフリン非依存的に、上皮管腔構造の分枝化に働いていることを初めて見いだした。さらに申請者は、EphA2受容体による上皮管腔構造の分枝化には、HGFによって引き起こされるPI3キナーゼ/Aktを介した897番目セリンのリン酸化が必須である一方、EphA2受容体自身のチロシンキナーゼ活性は必要でないことを明らかにした。また、がん細胞におけるシグナル同様、Ephexin4によるRhoGの活性化が関わっていることも示している。このように上皮細胞の管腔構造形成過程におけるEphA2受容体の機能、さらにはその分子メカニズムの解明までつなげたことは、上皮組織の発生及びEphA2受容体シグナルの異常によるがん化の機構を理解する上で意義のある成果であると考えられる。

本論文は、エフリン受容体EphA2の上皮細胞における機能とその制御メカニズムについて論理的かつ一貫性をもって示したものであり、がんの悪性化、さらには複雑な上皮組織の形成過程の基本的な分子機構の解明に寄与する新しい発見である。これらの理由により、本論文は生命科学の理解・発展に貢献する重要な論文であるとみなし、博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

平成27年1月27日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日